

天然产物枋酮对粘虫围食膜的影响

吕 敏^{1,*}, 陈素英², 韩礼波¹, 胡俊云¹, 徐 晖^{1,2,*}, 吴文君¹

(1. 西北农林科技大学植物保护学院农药研究所, 陕西杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学理学院, 陕西杨凌 712100)

摘要:【目的】枋酮是从芸香科植物白鲜 *Diatamnus dasycarpus* 根皮中分离出的一种化合物, 对试虫表现出胃毒活性。本研究旨在检测枋酮对粘虫 *Mythimna separata* 6 龄幼虫中肠围食膜的影响, 从而进一步阐明枋酮的杀虫作用机理。【方法】经活体及离体处理, 通过生化分析和扫描电镜观察等方法, 研究了枋酮处理对粘虫幼虫中肠围食膜糖含量, 蛋白质含量和组分以及围食膜表面结构的影响。【结果】枋酮(20 mg/mL)活体处理降低了粘虫 6 龄幼虫围食膜的蛋白质含量, 却使糖含量升高。活体(20 mg/mL 枋酮)及离体(8 mg/mL 枋酮)处理条件下, 围食膜糖含量分别为对照组的 1.75 倍及 2.17 倍。SDS-PAGE 结果显示, 离体及活体条件下经枋酮处理, 围食膜部分蛋白质降解。围食膜解剖扫描电镜观察表明, 枋酮处理可造成围食膜微纤丝排列紊乱。【结论】天然产物枋酮处理对粘虫中肠围食膜的糖含量及蛋白质含量和组分有影响, 且改变了围食膜表面结构。本研究为深入地研究枋酮杀虫作用机理奠定了基础。

关键词: 粘虫; 枋酮; 围食膜; 糖含量; 蛋白质含量; 扫描电镜

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2014)12-1389-06

Effects of fraxinellone on the peritrophic membrane of *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae)

LÜ Min^{1,*}, CHEN Su-Ying², HAN Li-Bo¹, HU Jun-Yun¹, XU Hui^{1,2,*}, WU Wen-Jun¹ (1. Institute of Pesticide Science, College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. College of Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Aim】 Isolated from the rootbark of *Diatamnus dasycarpus* Turcz., fraxinellone exhibits stomach toxicity against pests. This study aims to clarify the insecticidal mechanism of fraxinellone by investigating the effects of fraxinellone on the peritrophic membrane of the 6th instar larvae of *Mythimna separata*. 【Methods】 Through biochemical methods and SEM observation, the content of carbohydrates, the contents and components of proteins and the surface structure of the peritrophic membrane of the 6th instar larvae of *M. separata* after *in vivo* and *in vitro* treatments with fraxinellone were studied. 【Results】 *In vivo* treatment of fraxinellone (20 mg/mL) resulted in a drop of the protein content in the 6th instar larvae of *M. separata*. However, after *M. separata* larvae were subjected to *in vivo* (20 mg/mL fraxinellone) and *in vitro* (8 mg/mL fraxinellone) treatments with fraxinellone, the contents of carbohydrates of both treatments increased, which were 1.75 and 2.17 folds as high as those of the control, respectively. SDS-PAGE result showed that partial proteins were hydrolyzed in the 6th instar larvae of *M. separata* subjected to *in vivo* and *in vitro* treatment with fraxinellone. SEM observation showed that the surface structure of peritrophic membrane changed after the 6th instar larvae of *M. separata* were treated with fraxinellone *in vivo* and *in vitro*. 【Conclusion】 These results showed that fraxinellone affected the contents of carbohydrates and the contents and components of proteins, and altered the surface structure of the peritrophic membrane of *M. separata* larvae. This study provides a basis for further research on the insecticidal mechanisms of fraxinellone against pests.

Key words: *Mythimna separata*; fraxinellone; peritrophic membrane; carbohydrate content; protein content; scanning electron microscopy

基金项目: 国家自然科学基金项目(31000862); 西北农林科技大学基本科研业务费专项资金项目(2014YB091)

作者简介: 吕敏, 女, 1978 年生, 陕西兴平人, 博士, 助理研究员, 主要从事农药毒理学研究, E-mail: lvmin@nwsuaf.edu.cn

* 通讯作者 Corresponding authors, E-mail: lvmin@nwsuaf.edu.cn; orgxuhui@nwsuaf.edu.cn

收稿日期 Received: 2014-09-24; 接受日期 Accepted: 2014-11-23

围食膜(peritrophic membrane, PM)是由昆虫中肠上皮细胞分泌的一种非细胞长管束薄膜结构,具有一定的半透过性、弹性及韧性,厚薄均匀。其主要由蛋白质和几丁质微纤维网格组成,从昆虫的中肠延伸至后肠(史晋绒等, 2010)。围食膜是昆虫体内的一道物理保护屏障,具有特殊结构及重要的生理功能,昆虫通过保持其完整性以保证营养物质的消化吸收。所以以围食膜为靶标,如通过抑制其主要组分几丁质的合成以及围食膜中几丁质与蛋白质的结合,打破围食膜正常的生理机制,即可达到抑制昆虫生长发育、控制害虫种群的目的。近年来以围食膜作为某些杀虫剂的新的作用靶标已成为热门话题(吉洪湖和袁哲明, 2005)。

柞酮($C_{14}H_{16}O_3$)是研究较多的一种天然降解的柠檬苦素类似物。Coggon 等(1969)从白鲜 *Dictamnus albus* 中分离出柞酮;随后, Akhmedzhanova 等(1978)也从新疆白鲜 *D. angustifolius* 根的甲醇提取物中间相中首次分离出柞酮。已知多种芸香科及楝科植物,如新疆白鲜 *D. angustifolius*、帕拉芸香 *Fagaropsis glabra*、苦楝树 *Melia azadarach*、榆橘 *Raulinoa echinata*、白鲜 *Dictamnus albus* ssp. *dasycarpus* 中均含有该化合物,其对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Fukuyama *et al.*, 2006)、海灰翅夜蛾 *S. littoralis* (Nakatani *et al.*, 1998)、玉米象 *Sitophilus zeamais*、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Liu *et al.*, 2002)及粘虫 *Mythimna separata*(原春兰和李宗孝, 2005;卫粉艳和原春兰, 2006)等害虫具有拒食活性及毒杀活性。通过生物活性测定,作者发现柞酮具有缓效毒杀活性,对多种鳞翅目害虫表现出拒食及胃毒活性,柞酮对粘虫 3 龄幼虫的致死中浓 LC_{50} 值为 15.95 mg/mL (Lü *et al.*, 2013)。试虫取食柞酮后,表现出上吐下泻的胃毒剂中毒症状;组织病理学观察表明柞酮作用后可造成试虫中肠细胞器病变(Lü *et al.*, 2010)。消化系统的破坏,必将导致昆虫消化不良,生长发育受阻乃至死亡。因此,昆虫的消化系统理应成为杀虫剂的重要作用靶标。

前期课题组已经对柞酮的杀虫活性、作用症状、组织病理学、酶学做了较系统的研究。通过石蜡切片,发现柞酮处理后,粘虫中肠围食膜有部分缺失(Lü *et al.*, 2010)。因此,本研究通过糖含量、蛋白质含量及蛋白质组分测定及扫描电镜观察等方法,研究活体及离体条件下柞酮处理对 6 龄粘虫幼虫中肠围食膜糖含量,蛋白含量及组分以及围食膜表面

结构的影响,为进一步揭示柞酮的杀虫作用机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料及试剂

粘虫 *Mythimna separata* 6 龄幼虫由西北农林科技大学农药研究所提供,室内小麦叶片饲养(22℃, RH 60% ~ 80%, 光周期 14L: 10D)。

柞酮(fraxinellone),纯度 > 98%,由西北农林科技大学农药研究所提供,用丙酮稀释为所需浓度。30% 丙烯酰胺-双丙烯酰胺溶液(北京普利莱基因技术有限公司);萘酮(国药集团化学试剂有限公司);牛血清白蛋白(Roche 公司)。

1.2 试虫处理

活体:采用载毒叶片饲喂法(Lü *et al.*, 2010),将 1 μ L 20 mg/mL 柞酮丙酮溶液点涂在 0.5 cm \times 0.5 cm 的小麦叶片上,饲喂粘虫 6 龄幼虫。48 h 后,待试虫表现出失水症状时,解剖取围食膜,清洗至无色透明,置于 4℃ 冰箱待用,对照组以丙酮处理。

离体:解剖试虫取围食膜,在去离子水中漂洗至无色透明,吸干水分后用 50 μ L 8 mg/mL 的柞酮丙酮溶液处理,25℃ 孵育 30 min,同时以 50 μ L 丙酮处理为对照。

1.3 围食膜蛋白质含量测定

采用 Bradford 法(刘国琴等, 2011)测定蛋白质含量。取出保存在 4℃ 冰箱的处理及对照组围食膜,加入 0.5 mL pH 7.5 100 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(含 150 mmol/L NaCl, 5 mmol/L EDTA, 0.1 mmol/L PMSF),在冰浴下匀浆,4℃ 5 000 g 条件下离心 20 min,取上清液。在试管中加入 40 μ L 待测蛋白质溶液,0.15 mol/L NaCl 溶液 160 μ L,再加入 2 mL 考马斯亮蓝染料溶液,用酶标仪测定 A_{595} 值,以 200 μ L 0.15 mol/L NaCl 作为空白对照,从 BSA 标准曲线上确定待测样品的浓度,计算出围食膜蛋白质含量。对照及处理各重复测定 3 次。

1.4 糖含量测定

采用萘酮-硫酸法(张惟杰, 1994)。取冷冻干燥的围食膜 1 mg,加 0.5 N HCl 0.5 mL,加塞,置沸水浴中 15 min,自来水冷却后加 0.5 N NaOH 中和至 pH 7。取样品溶液 1.0 mL,加入 2.0 mL 2 g/L 萘酮试剂,迅速浸于冰水浴中冷却,各管加完后一起浸于沸水浴中,加塞,以防蒸发。自水浴重新

煮沸起,准确煮沸 10 min,自来水冷却后用酶标仪测定 A_{620} 。根据葡萄糖标准曲线和样品浓度计算出围食膜糖含量。对照及处理各重复测定 3 次。

1.5 围食膜扫描电镜观察

取活体及离体条件下的对照及处理组的粘虫围食膜,清洗至无色透明,立即置于冰冷的 2.5% 戊二醛固定。经梯度乙醇、梯度叔丁醇及叔丁醇:乙腈(2:1, v/v)、叔丁醇:乙腈(1:1, v/v)、乙腈脱水。将样品从乙腈中取出,等乙腈挥发干燥,将干燥的样品剪裁成大小一致的形状粘于贴有黑色导电双面胶的金属台上,镀膜后在扫描电镜下观察各组织结构并照相。

1.6 围食膜蛋白的 SDS-PAGE

采用不连续体系(朱蓉等, 2003)。分离胶浓度为 12%, 浓缩胶浓度为 5%。样品及 Marker 在沸水浴煮 3 ~ 5 min, 室温下冷却, 上样。点样量为 30 μ L。浓缩胶及分离胶电压分别为 80 V 和 120 V, 当溴酚兰指示剂到达下方前缘 1 cm 时, 将电压调至

最小, 关闭电源, 停止电泳。经染色、脱色, 待背景颜色变淡时拍照。

1.7 数据处理

每个处理重复 3 次, 实验结果以平均值 \pm 标准差表示。采用 SPSS 10.0 软件对测定的结果进行方差分析, 其中活体及离体条件下对照及处理的蛋白质及糖含量比较采用 t -检验。

2 结果与分析

2.1 楞酮对粘虫 6 龄幼虫围食膜蛋白质及糖含量的影响

活体及离体条件下, 楞酮对粘虫中肠围食膜蛋白质及糖含量的影响见表 1。以 BSA 制作的蛋白质标准曲线为 $y = 0.0017x + 0.1651$ ($R^2 = 0.9589$), 以葡萄糖制作的糖标准曲线为 $y = 0.0042x + 0.0382$ ($R^2 = 0.9957$)。

表 1 楞酮对粘虫 6 龄幼虫围食膜的蛋白质及糖含量的影响
Table 1 Effects of fraxinellone on the contents of proteins and carbohydrates of the peritrophic membrane of the 6th instar larvae of *Mythimna separata*

	蛋白质含量 Protein content (μ g)		糖含量 Carbohydrate content (μ g)	
	活体 <i>In vivo</i>	离体 <i>In vitro</i>	活体 <i>In vivo</i>	离体 <i>In vitro</i>
对照 (CK)	259.9 \pm 20.7 a	243.3 \pm 22.5 a	26.6 \pm 1.7 a	26.9 \pm 1.1 a
处理 Treatment	190.7 \pm 9.3 b	216.6 \pm 19.3 a	46.7 \pm 0.9 b	58.2 \pm 1.8 b

表中数据为 3 次重复的平均值 \pm 标准误。同列数据后不同小写字母表示对照及处理间差异显著(t -检验, $P < 0.05$); 活体及离体分别用 20 mg/mL 及 8 mg/mL 楞酮处理。All values are mean \pm SE of three replicates. Different lowercase letters following the data in a column indicate significant difference between CK and the treatment (t -test, $P < 0.05$). The concentrations of fraxinellone of *in vivo* and *in vitro* treatments were 20 mg/mL and 8 mg/mL, respectively.

从表 1 可以看出, 活体取食楞酮后, 粘虫围食膜蛋白质含量降低, 仅为对照的 73.37%。相反地, 20 mg/mL 楞酮处理后的围食膜糖含量升高了 75.56%。经 8 mg/mL 楞酮离体处理后, 粘虫围食膜蛋白质含量无明显变化, 而糖含量则上升为对照的 2.17 倍。分析其原因, 可能是中毒试虫处于饥饿状态, 中肠内消化酶将部分蛋白质水解, 导致蛋白质含量降低; 而在离体条件下, 试虫未经长时间饥饿, 消化酶没有对蛋白质造成大量水解, 因此蛋白质含量变化不大。

2.2 楞酮对粘虫 6 龄幼虫围食膜蛋白质组分的影响

从图 1 可以看出, 在活体条件下, 对照围食膜(泳道 2)蛋白质条带较多, 有 7 条, 分子量分别为大于 97.4 kD, 43.0 ~ 66.2 kD, 26.0 kD 及小于 14.4 kD; 经 20 mg/mL 楞酮处理后(泳道 1), 蛋白质条带明显减少, 只有 3 条。相同地经楞酮离体处理粘虫围食膜后, 8 mg/mL 处理组(泳道 3)蛋白质

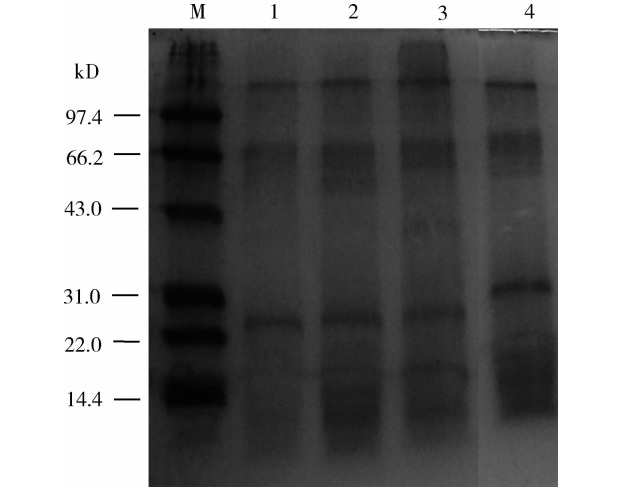


图 1 SDS-PAGE 分析楞酮对粘虫围食膜蛋白质组分的影响
Fig. 1 Effect of fraxinellone on the protein components of the peritrophic membrane of *Mythimna separata* analyzed by SDS-PAGE
M: 蛋白质分子量标准物 Protein molecular weight marker; 1, 2: 分别为活体条件下的处理(20 mg/mL 楞酮)及对照 Treatment (with 20 mg/mL fraxinellone) and CK *in vivo*, respectively; 3, 4: 分别为离体条件下的处理(8 mg/mL 楞酮)及对照 Treatment (with 8 mg/mL fraxinellone) and CK *in vitro*, respectively.

条带比对照(泳道4)减少,特别是分子量在43.0~66.2 kD及14.4 kD附近,蛋白条带均降为两条。结合蛋白质含量测定结果,栲酮处理对粘虫围食膜蛋白质组分有影响。

2.3 栲酮对粘虫6龄幼虫围食膜表面结构的影响

栲酮处理后,粘虫对照及处理组围食膜表面扫描电镜观察结果见图2。由图2可以看出,活体条件下,对照组粘虫围食膜(图2:A)表面有细

小的皱褶,几丁质微纤丝网格结构规则;20 mg/mL 栲酮处理组围食膜(图2:B)部分区域微纤丝排列紊乱,部分区域隆起,表面出现了片层结构。离体条件下,对照组粘虫围食膜(图2:C)表面有细小的皱褶,几丁质微纤丝网格结构规则,排列有规律;8 mg/mL 栲酮处理组围食膜(图2:D)部分区域微纤丝密集,致使几丁质网格结构疏松,但未见有孔洞产生。

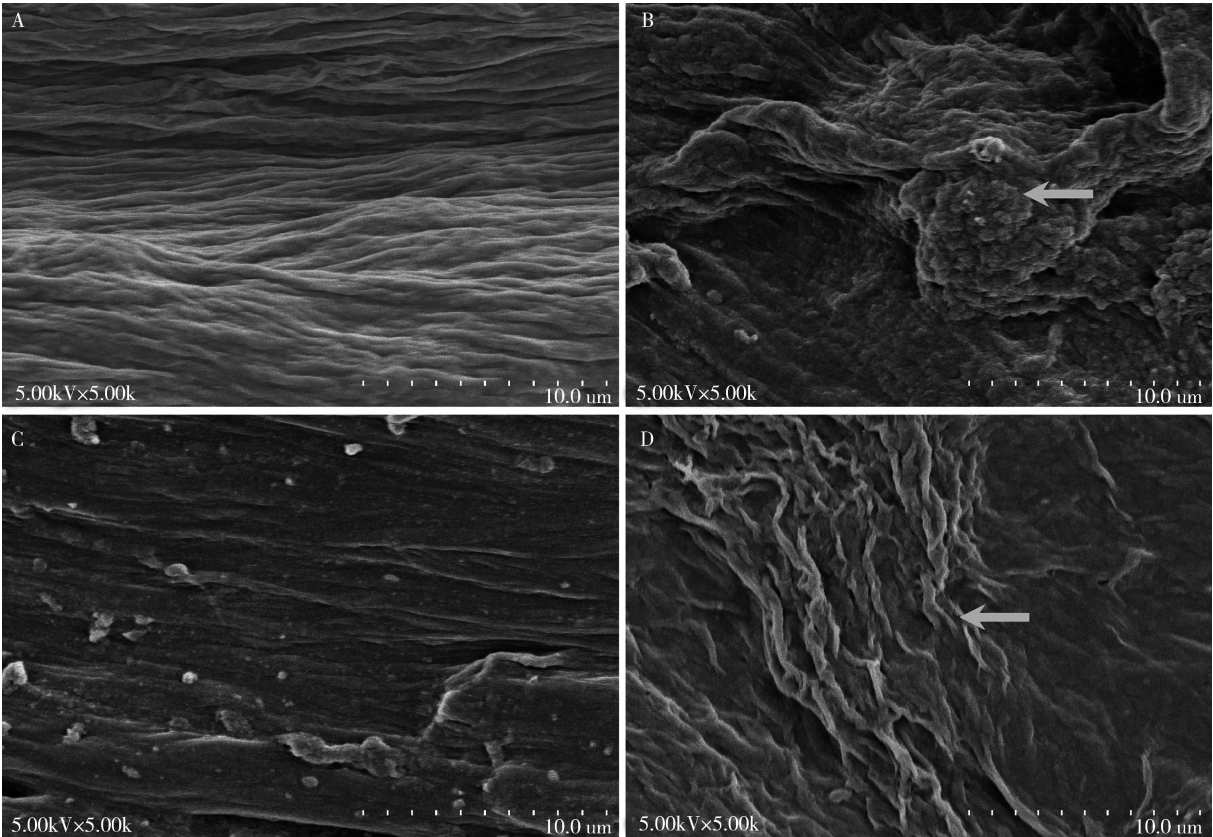


图2 栲酮处理后粘虫6龄幼虫围食膜表面扫描电镜观察结果
Fig. 2 The SEM observation results of the peritrophic membrane of the 6th instar larvae of *Mythimna separata* after treatment with fraxinellone

A, B: 分别为活体条件下的对照及处理(20 mg/mL 栲酮处理)CK and treatment (with 20 mg/mL fraxinellone) *in vivo*, respectively; C, D: 分别为离体条件下的对照及处理(8 mg/mL 栲酮处理)CK and treatment (with 8 mg/mL fraxinellone) *in vitro*, respectively. B及D中的箭头表示病变部位。The arrows in B and D indicate the diseased region.

3 讨论

由于围食膜是外源性物质通过消化道进入昆虫体内的第一道屏障,通常为病原体侵染的重要位点和杀虫剂的潜在靶标(Wang and Robert, 2001)。围食膜主要组分为蛋白质和几丁质,其他组分有酸性粘多糖、中性多糖、粘蛋白、透明质酸、己糖胺、葡萄糖和葡萄糖酸等。许多蛋白是糖基化的,可增加围

食膜屏障的致密性、坚韧性,从而降低半渗透性(姜姍彤等, 2012)。

有研究表明,昆虫围食膜的结构中围食膜蛋白质含量为20%~55%, SDS-PAGE分离出12种主要蛋白质,大小在15~220 kD之间,其中大部分小于100 kD(Tellam *et al.*, 1999)。国内有人分析过棉铃虫围食膜的结构和组成, SDS-PAGE显示有16条主要蛋白质带,分子量一般在97.4 kD以下。与之相类似,本实验研究结果表明,经SDS-PAGE,围食

膜蛋白质成分较多,且分子量大都分布在 97.4 kD 以下。外源物质处理会对围食膜蛋白质含量及组分产生影响,如朱蓉等(2003)研究发现,1% 光增白剂 M2R 在离体条件下可使围食膜蛋白质解离。刘琴等(2011)用苏云金芽胞杆菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt)、粘虫颗粒体病毒(PuGV-Ps)及其增效蛋白(enhancin)分别处理甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 中肠围食膜,SDS-PAGE 结果表明,取食 PuGV-Ps 或增效蛋白后,围食膜上 150 kD 及 27 kD 蛋白被部分降解,而 29 kD 蛋白被完全降解;取食 Bt 后的围食膜上 29 kD 蛋白也被降解。离体降解试验进一步证明 PuGV-Ps 增效蛋白对甜菜夜蛾围食膜上多种蛋白具有降解作用,这种降解可能使得围食膜几丁质构成的基质网孔径增大,通透性增强,改善 Bt δ -内毒素的通透环境,使作用于中肠上皮细胞的毒蛋白的浓度增加而提高 Bt 的毒力。本研究采用梣酮处理,发现粘虫围食膜部分蛋白质被降解。

Richards 和 Richards (1977) 研究显示大多数昆虫围食膜表面光滑致密,无孔和缝,少数种类有孔径大小为 30 nm 的小孔。朱蓉等(2003)采用扫描电镜方法研究了甜菜夜蛾幼虫的围食膜,结果显示围食膜表面均匀、光滑,无孔洞与缝隙,经光增白剂 M2R 处理,围食膜外壁皱缩,内壁质薄,从而破坏了围食膜结构的完整性,改变了围食膜的通透性。同样地,经梣酮处理,粘虫围食膜表面微纤维排列紊乱,部分区域隆起,表面出现了片层结构。

梣酮处理活体粘虫可降低其围食膜的蛋白质含量,而离体处理对围食膜蛋白质的含量影响不大,但糖含量明显升高,分析其可能原因是离体围食膜未经长时间饥饿,因此没有受到粘虫自身分泌的消化酶的降解,蛋白质含量变化不大。离体围食膜直接与药剂接触,从而使糖部分溶解,造成糖含量明显上升。蛋白质及糖组分及含量的改变,使围食膜致密性及坚韧性改变,从而导致试虫死亡。由于本研究未涉及梣酮对围食膜超微结构的影响,因此尚需通过透射电镜对其进行深入研究。

综上所述,梣酮处理改变了粘虫幼虫中肠围食膜的糖含量及蛋白质含量和组分,导致围食膜蛋白质和几丁质的解离,引起围食膜结构的破坏,从而导致试虫死亡。

参考文献 (References)

Akhmedzhanova VI, Bessonova IA, Yunusov SY, 1979. The roots of

- Dictamnus angustifolius*. *Chemistry of Natural Compounds*, 14(4): 404–406.
- Coggon P, McPhail AT, Storer R, Young DW, 1969. The structure and absolute configuration of fraxinellone, a biogenetically intriguing terpenoid from *Dictamnus albus* L. *Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications*, (14): 828.
- Fukuyama Y, Nakaoka M, Yamamoto T, Takahashi H, Minami H, 2006. Degraded and oxetane-bearing limonoids from the roots of *Melia azedarach*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54(8): 1219–1222.
- Ji HH, Yuan ZM, 2005. Peritrophic membrane: a potential target for biocontrol of pest insects. *Acta Entomologica Sinica*, 48(6): 968–974. [吉洪湖, 袁哲明, 2005. 围食膜: 害虫生物防治的潜在靶标. *昆虫学报*, 48(6): 968–974]
- Jiang ST, Mao LY, Liu XY, Yao Q, Chen KP, 2012. The natural barrier in insects-peritrophic membrane. *Journal of Biology*, 29(4): 70–73. [姜姍彤, 毛浪勇, 刘晓勇, 姚勤, 陈克平, 2012. 昆虫体内的天然屏障——围食膜. *生物学杂志*, 29(4): 70–73]
- Liu GQ, Wu W, Chen P, 2011. *Modern Protein Technique*. China Agricultural University Press, Beijing. 50–55. [刘国琴, 吴玮, 陈鹏, 2011. 现代蛋白质实验技术. 北京: 中国农业大学出版社. 50–55]
- Liu Q, Ma TB, Qi JH, Shi JD, Li CM, Xu J, 2011. Damaging effects of PuGV-Ps and *Bacillus thuringiensis* on peritrophic membrane of *Spodoptera exigua*. *Chinese Journal of Biological Control*, 27(2): 182–187. [刘琴, 马谈斌, 祁建杭, 施建德, 李传明, 徐健, 2011. 苏云金芽胞杆菌毒素蛋白和粘虫颗粒体病毒对甜菜夜蛾中肠围食膜的破坏作用. *中国生物防治学报*, 27(2): 182–187]
- Liu ZL, Xu YJ, Wu J, Goh SH, Ho SH, 2002. Feeding deterrents from *Dictamnus dasycarpus* Turcz against two stored-product insects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6): 1447–1450.
- Lü M, Wu WJ, Liu HX, 2010. Effects of fraxinellone on the midgut ultrastructural changes of *Mythimna separata* Walker. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 263–268.
- Lü M, Wu WJ, Liu HX, 2013. Insecticidal and feeding deterrent effects of fraxinellone from *Dictamnus dasycarpus* against four major pests. *Molecules*, 18(3): 2754–2762.
- Nakatani M, Huang RC, Okamura H, Iwagawa T, Tadera K, 1998. Degraded limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, 49(6): 1773–1776.
- Richards AG, Richards PA, 1977. The peritrophic membranes of insects. *Annual Review of Entomology*, 22(1): 219–240.
- Shi JR, Liu B, Ma Y, Shen YH, 2010. Advances in research of peritrophic membrane in insects. *Newsletter of Sericultural Science*, 30(3): 7–13. [史晋级, 刘博, 马艳, 沈以红, 2010. 昆虫围食膜的研究进展. *蚕学通讯*, 30(3): 7–13]
- Tellam RL, Wijffels G, Willadsen P, 1999. Peritrophic matrix proteins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29(2): 87–101.
- Wang P, Granados RR, 2001. Molecular structure of the peritrophic membrane (PM): identification of potential PM target sites for insect control. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 47(2): 110–118.

Wei FY, Yuan CL, 2006. Isolation and identification of pesticidal activity components in *Dictamnus dasycarpus* Turcz. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 15(4): 93 – 95. [卫粉艳, 原春兰, 2006. 白鲜皮杀虫活性成分的分离与鉴定. 西北农业学报, 15(4): 93 – 95]

Yuan CL, Li ZX, 2005. The insecticidal activity of a new botanical pesticide, fraxinellone. *Plant Protection*, 31(5): 86 – 87. [原春兰, 李宗孝, 2005. 一种新型植物源杀虫剂楞酮的杀虫活性. 植物保护, 31(5): 86 – 87]

Zhang WJ, 1994. Biochemical Research Technology of Glycoconjugate. Zhejiang University Press, Hangzhou. [张惟杰, 1994. 糖复合物生化研究技术. 杭州: 浙江大学出版社]

Zhu R, Peng JX, Hong HZ, 2003. Effects of fluorescent brightener on the peritrophic membrane structure of *Spodoptera exigua*. *Acta Entomologica Sinica*, 46(4): 424 – 428. [朱蓉, 彭建新, 洪华珠, 2003. 光增白剂对甜菜夜蛾围食膜结构的作用与影响. 昆虫学报, 46(4): 424 – 428]

(责任编辑: 赵利辉)